

Konfiguration des Periplogenins und des allo-Periplogenins

Verkürzte Fassung der
INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

PETER SPEISER
aus Gelterkinden (Baselland)

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., AG.
1948

Konfiguration des Periplogenins und des allo-Periplogenins

Verkürzte Fassung der INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

PETER SPEISER
aus Gelterkinden (Baselland)

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., AG.
1948

Genehmigt von der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. *T. Reichstein* und Dr. *K. Leupin*.

Basel, den 20. Januar 1948.

Prof. Dr. *M. Fierz*
Dekan.

Herrn *Peter Speiser* wurde von der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 20. Jan. 1948 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 20. Jan. 1948 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

Konfiguration des Periplogenins und des allo-Periplogenins

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im pharmazeutischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.



Konfiguration des Periplogenins und des *allo*-Periplogenins.

*Jacobs*¹⁾ beobachtete, dass Cymarin durch ein in *Strophanthus*-Samen vorkommendes Ferment in ein isomeres, aber biologisch unwirksames Glykosid umgelagert wird, das er *allo*-Cymarin nannte. In gleicher Weise wird nach *Lamb* und *Smith*²⁾ Emicymarin in *allo*-Emicymarin umgelagert. Die entsprechende Reaktion konnte kürzlich auch beim Periplocymarin beobachtet werden^{e)} 3). Nach *Lamb* und *Smith*²⁾ lässt sich das allomerisierende Ferment aus den zerkleinerten Samen durch Ausziehen mit Wasser nicht in Lösung bringen und kann auf diese Weise weitgehend von den daneben reichlich vorkommenden wasserlöslichen hydrolysierenden Fermenten (*Strophantobiasen*) abgetrennt werden.

Die hydrolytische Spaltung der *allo*-Glykoside lieferte dieselben Zucker wie die Spaltung der ursprünglichen, biologisch aktiven Glykoside, jedoch waren die dabei entstandenen Aglykone verschieden. Die Allomerisierung findet somit im Aglykon-Anteil statt. Die *allo*-Aglykone besitzen ferner, soweit bisher bekannt, auch die gleichen funktionellen Gruppen wie die nativen Aglykone und zeigen im Ultraviolett die gleiche selektive Absorption mit einem Maximum bei ca. 215–218 m μ ^{d)}. Daraus wurde geschlossen, dass es sich bei der Allomerisierung lediglich um eine räumliche Umlagerung an einem Asymmetriezentrum handelt. *Tschesche* u. Mitarb.⁴⁾ 5) vermuten, dass sie an C-17 stattfindet, während *Bloch* und *Elderfield*⁶⁾ glauben, dass die Isomerisierung an C-14 eintritt. Die bisher bekannt gewordenen Resultate sprechen eher zugunsten der Annahme von *Tschesche*. *Plattner*, *Ruzicka* u. Mitarb.⁷⁾ konnten kürzlich auf teilsynthetischem Wege 3 β ,14,21-Triox-14-*iso*-17-*iso*-nor-allocholen-(20-22)-säure-lacton (23 $\rightarrow$ 21) bereiten, das sie als *allo*-Uzarigenin bezeichnen. Durch fermentative Allomerisierung des Uzarins und an-

1) *W. A. Jacobs*, *J. Biol. Chem.* **88**, 519 (1930).

2) *J. D. Lamb*, *S. Smith*, *Soc.* **1936**, 442.

3) Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe auf der Formelseite.

4) *R. Tschesche*, *K. Bohle*, *B.* **71**, 654 (1938).

5) *R. Tschesche*, *K. Bohle*, *W. Neumann*, *B.* **71**, 1927 (1938).

6) *E. Bloch*, *R. C. Elderfield*, *J. Org. Chem.* **4**, 289 (1939).

7) *Pl. A. Plattner*, *L. Ruzicka*, *H. Heusser*, *E. Angliker*, *Helv.* **30**, 1073 (1947).

schliessende hydrolytische Spaltung ist dieser Stoff bisher noch nicht erhalten worden, so dass ein direkter Vergleich nicht möglich war. Das synthetische Material und das daraus durch Wasserabspaltung erhaltene Anhydro-Produkt zeigten jedoch einen ähnlichen Unterschied in den spez. Drehungen, wie sie zwischen *allo*-Aglykonen und ihren Wasserabspaltungsprodukten beobachtet wurden, während die Differenz zwischen normalen Aglykonen und ihren Anhydro-Produkten beträchtlich kleiner ist.

Durch die freundliche Überlassung einer grösseren Menge von *Strophanthus Eminii*-Samen hat Herr Prof. *Stoll* es uns ermöglicht, genügend Periplogenin zu bereiten¹⁾, um die genannte Frage durch Abbau zu entscheiden. Das benötigte *allo*-Periplogenin wurde durch Hydrolyse von *allo*-Emicymarin gewonnen. Dabei konnte auch die Konfiguration des Periplogenins weitgehend abgeklärt werden²⁾.

Periplogenin-acetat (III)^{d)} wurde nach der kürzlich beschriebenen Methode³⁾ ozonisiert und das Ozonid reduktiv mit Zinkstaub gespalten. Es entstand in fast quantitativer Ausbeute ein neutrales, stark reduzierendes Reaktionsprodukt, das den Glyoxylsäure-ester (VII) dargestellt haben dürfte. Es liess sich teilweise krystallisieren⁴⁾; für den folgenden Abbau wurde es ohne weitere Reinigung mit KHCO_3 in wässrigem Methanol verseift und gab das kryst. Ketol (VIII). Dieses lieferte beim Abbau mit HJO_4 eine Säure (X), die mit Diazomethan in den kryst. Methylester (XI) übergeführt wurde. Aus den weiter unten angeführten Gründen bezeichnen wir ihn als 3 β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-*iso*-ätio-cholansäure-methylester. Bei der Wasserabspaltung mit POCl_3 in Pyridin entstand aus (XI) ein Gemisch, das nicht getrennt wurde. Aus dem Verlauf der nachfolgenden Hydrierung schliessen wir, dass es zur Hauptsache aus den beiden ungesättigten Estern (XV) und (XVI) bestanden hat⁵⁾. Die genannte Hydrierung des Gemisches lieferte den bekannten 3 β -Acetoxy-ätio-allocholsäure-methylester (XIX)^{f)}g) und den ebenfalls bekannten Ätio-allocholsäure-methylester (XX)^{h)}, die sich nach Smp., spez.

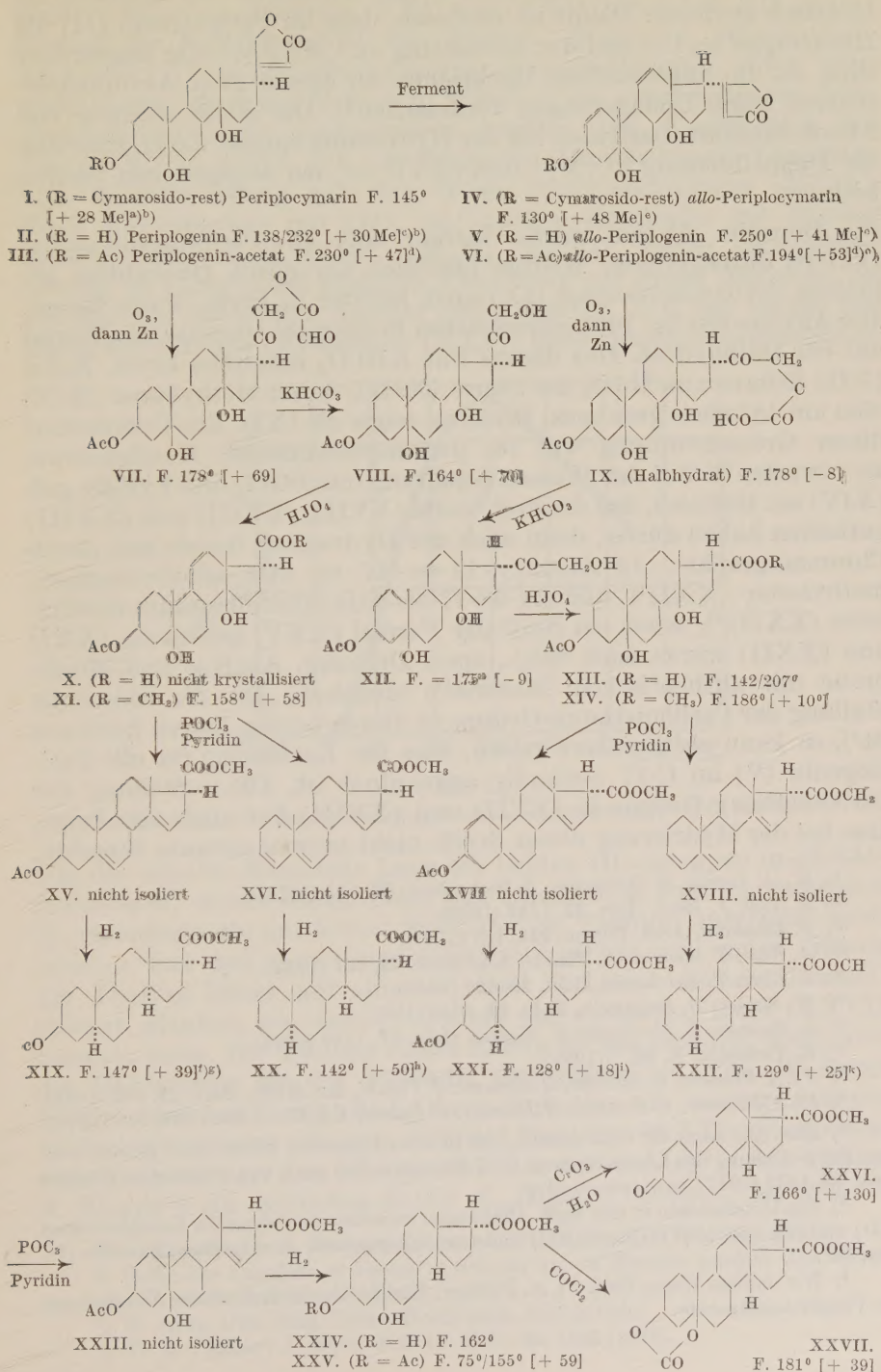
¹⁾ Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Prof. *A. Stoll* für dieses wertvolle Material, das in Ostafrika unter botanischer Kontrolle gesammelt worden war, herzlich danken.

²⁾ Mit der Stereochemie des *Strophanthidins* und Periplogenins befasst sich auch eine soeben erschienene Arbeit von *Pl. A. Plattner, A. Segre, O. Ernst*, *Helv.* **30**, 1432 (1947). Es wird dort die β -Stellung der Substituenten an C-5 und C-17 bewiesen und für die HO-Gruppe an C-3 sehr wahrscheinlich gemacht.

³⁾ *K. Meyer, T. Reichstein*, *Helv.* **30**, 1508 (1947).

⁴⁾ Die Analyse der Krystalle stimmt besser auf eine um zwei H-Atome reichere Formel, so dass es nicht ausgeschlossen ist, dass ein Glykolsäure-ester vorlag. Für den weiteren Abbau hat das keine Bedeutung.

⁵⁾ Bei einem aus *Strophanthidol*-diacetat erhaltenen, ähnlich wie (XI) gebauten Ester wurde von *H. Koechlin, T. Reichstein*, *Helv.* **30**, 1673 (1947), nach der Wasserabspaltung ein dreifach ungesättigter Ester isoliert, dessen Ultraviolett-Absorptionsspektrum auf das Vorliegen von zwei konjugierten Doppelbindungen in zwei verschiedenen Ringen hinwies.



Drehung, Analyse und Mischprobe mit authentischem Material als identisch erwiesen. Damit ist bewiesen, dass im Periplogenin (II) die HO-Gruppe an C-3 und der Lactonring an C-17 β -ständig angeordnet sind, da die angewandten Reaktionen an diesen zwei Asymmetriezentren keine Umlagerungen verursachen¹⁾. Die glatte Bildung von Allocholansäure-Derivaten bei der Hydrierung spricht dafür, dass sich die Doppelbindung in (XV) und (XVI) an den angegebenen Stellen befindet.

Derselbe Abbau wurde hierauf mit *allo*-Periplogenin-acetat (VI)^{d)}^{e)} durchgeführt. Hierbei liess sich der durch Ozonabbau gebildete Glyoxylsäure-ester (IX) noch leichter in kryst. Form fassen. Die Analyse des bei 100° getrockneten Präparates stimmte annähernd auf ein Halbhydrat. Das daraus mit KHCO₃ erhaltene kryst. Ketol (XII) lieferte mit HJO₄ die Säure (XIII), deren Methylester (XIV) eine um 48° niedrigere spez. Drehung zeigte als (XI). Ein Unterschied dieser Grössenordnung war bei der angenommenen Konfiguration zu erwarten²⁾. Bei der Wasserabspaltung mit POCl₃ und Pyridin gab (XIV) ein Gemisch, das die drei Stoffe (XVII), (XVIII) und (XXIII) enthalten haben dürfte, denn nach der Hydrierung liessen sich durch Chromatographie 3 β -Acetoxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-allocholansäuremethylester (XXI)ⁱ⁾ und 14-*iso*-17-*iso*-Ätio-allocholansäuremethylester (XXII)^{k)}, sowie ein Stoff der Formel (XXV) gewinnen. (XXI) und (XXII) waren nach Smp., spez. Drehung, Analyse und Mischprobe mit authentischem Material³⁾ identisch. Da die räumliche Stellung der Carbomethoxy-Gruppe in diesen beiden Estern bewiesen ist¹⁾, so kann als gesichert gelten, dass der Lactonring im *allo*-Periplogenin (V) an C-17 α -ständig angeordnet ist. Die α -Stellung der Carbomethoxy-Gruppe in (XVII) und (XVIII) hat auch zur Folge, dass bei der Hydrierung dieser Stoffe nicht normal gebaute Steroide,

a) W. A. Jacobs, A. Hoffmann, J. Biol. Chem. **79**, 519 (1928).

b) A. Stoll, J. Renz, Helv. **22**, 1193 (1939).

c) E. Lehmann, Arch. Pharm. **235**, 157 (1897).

d) A. Katz, T. Reichstein, Pharm. Acta Helv. **19**, 231 (1944).

e) A. Katz, T. Reichstein, Helv. **28**, 476 (1945).

f) M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **20**, 1040 (1937).

g) L. Ruzicka, E. Hardegger, C. Kauter, Helv. **27**, 1164 (1944).

h) R. Tschesche, B. **68**, 7 (1935).

i) Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki, Kd. Meier, Helv. **29**, 942 (1946).

k) Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki, Kd. Meier, Helv. **29**, 949 (1946).

¹⁾ Dass dies auch für C-17 zutrifft, soll in einer folgenden Arbeit noch gezeigt werden. Die β -Stellung des Lactonrings an C-17 ist inzwischen auch von Plattner u. Mitarb., Helv. **30**, 1432 (1947), bewiesen worden.

²⁾ Die Unterschiede in den Spez. Drehungen zwischen den isomeren Ketolderivaten (VII) und (IX), sowie (VIII) und (XII) sind erwartungsgemäss noch grösser, nämlich 77°, bzw. 79°.

³⁾ Wir danken Herrn Prof. Pl. A. Plattner, Zürich, für die freundliche Überlassung der Vergleichspräparate.

sondern die 14-*iso*-Derivate (XXI) und (XXII) entstehen. Ein solcher Verlauf der Hydrierung ist von *Plattner, Ruzicka* u. Mitarb.¹⁾ am 3 β -Acetoxy-17-*iso*- Δ^5 -cholesten-(14)-säure-methylester sowie ganz kürzlich von *Ruzicka, Plattner* u. Mitarb.¹⁾ am entsprechenden Δ^5 -cholesten-säure-Derivat nachgewiesen worden. Die Konstitution des Esters (XXV) ergibt sich aus folgenden Umsetzungen: Verseifung und Remethylierung gab den freien Dioxy-methylester (XXIV). Nach Dehydrierung mit CrO₃ und kurzem Erwärmen mit Eisessig lieferte dieser einen Ester C₂₁H₃₀O₃ (XXVI), dessen alkoholische Lösung im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei 240 m μ und log ϵ =4,15 aufwies (siehe Kurve). Von den beiden tertiären HO-Gruppen ist somit in (XXIV) die 5-ständige noch erhalten.

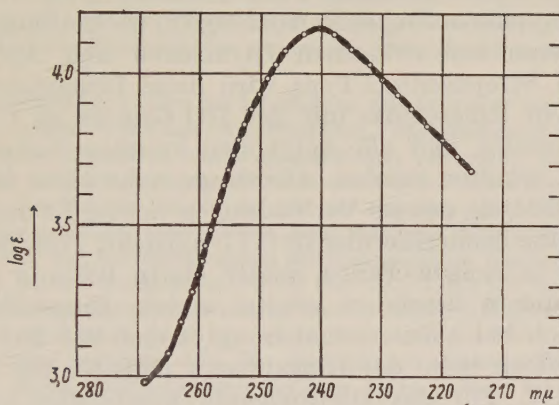


Fig. 1.

3-Keto-14-*iso*-17-*iso*- Δ^5 -cholesten-(4)-säure-methylester (XXVI) in Alkohol.

Um die relative räumliche Lage der beiden HO-Gruppen in (XXIV) festzulegen, wurde dieser Ester mit Phosgen in Pyridin umgesetzt. Es resultierte ein gut kryst. Stoff, der im Vakuum unzersetzt sublimierbar war und somit monomolekular gebaut sein muss. Obwohl die Analyse besser auf eine um zwei H-Atome reichere Formel²⁾ stimmt, glauben wir, dass es sich um den cyclischen Ester (XXVII) handeln muss. Die Bildung dieses Esters ist nur möglich, wenn auch die HO-Gruppe an C-5 β -ständig angeordnet ist. Von *W. Lang*³⁾ wurde ausgehend von 3 α -5-Dioxy-cholestan ein analog gebautes cyclisches Carbonat erhalten, während dies beim 3 β -5-Dioxy-cholestan nicht möglich war. Aus Strophanthidin konnten *Lang*³⁾ sowie *Plattner* u. Mitarb.⁴⁾ ein cyclisches Sulfid (C₂₃H₂₈O₆S) bereiten, das sich von

¹⁾ *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, H. Heusser, Kd. Meier, Helv. 30, 1342 (1947).*

²⁾ Sollte dies zutreffen, so könnte es sich nur um ein Formiat handeln. Die Bildung eines solchen wäre schwer verständlich.

³⁾ *W. Lang, Diss. Eidg. Techn. Hochschule, Zürich 1946.*

⁴⁾ *Pl. A. Plattner, A. Segre, O. Ernst, Helv. 30, 1432 (1947).*

einem Anhydro-strophanthidin ableitet und in dem höchst wahrscheinlich die zwei HO-Gruppen an C-3 und C-5 verestert sind¹⁾, was ebenfalls stark dafür spricht, dass beide auf derselben Seite des Ringgerüsts angeordnet sind. In der genannten Arbeit konnten Plattner u. Mitarb. vor allem aber einen unabhängigen, sehr guten Beweis dafür erbringen, dass im Periplogenin die HO-Gruppe an C-5 β -ständig angeordnet ist. Die zwei Untersuchungen ergänzen sich somit ausgezeichnet und geben zusammen eine sehr sichere Stütze dafür, dass die beiden HO-Gruppen an C-3 und an C-5 β -Konfiguration besitzen. Die bisherigen Versuche geben keinen ganz eindeutigen Aufschluss über den räumlichen Bau des Periplogenins und *allo*-Periplogenins am C-Atom 14. Wahrscheinlich besitzen beide Stoffe dieselbe Konfiguration an diesem Asymmetriezentrum, was in einer folgenden Arbeit bewiesen werden soll. Periplogenin geht beim Stehen in methyllkoholischer Natronlauge in *iso*-Periplogenin über^{a)}. Wie bei anderen herzwirksamen Glykosiden und Aglykonen des Digitalis- und Strophanthus-Typs wird diese Isomerisierung so gedeutet, dass ein Ringschluss mit der HO-Gruppe an C-14 eintritt. Aus *allo*-Glykosiden und *allo*-Aglykonen konnten bisher keine *iso*-Verbindungen erhalten werden. Allerdings steht nicht fest, dass die Deutung der Bildung der *iso*-Verbindungen richtig ist und vor allem, dass sie sich ohne Isomerisierung an C-17 vollzieht. Trotzdem sprechen nicht nur die in einigen Fällen relativ glatte Bildung der *iso*-Verbindungen, sondern besonders gewisse andere Ringschlüsse²⁾ stark dafür, dass sich bei allen normalen Aglykonen die HO-Gruppe an C-14 auf derselben Seite des Ringsystems befindet wie die Lactongruppe an C-17. Für das Digitoxigenin wurde dies kürzlich von K. Meyer²⁾ bewiesen³⁾. Dies ist der Grund, warum wir vorläufig und unter Vorbehalt des späteren Beweises Periplogenin und *allo*-Periplogenin als 14-*iso*-Steroide formulieren. Im Periplogenin wären demnach alle funktionellen Gruppen β -ständig angeordnet; im *allo*-Periplogenin ist lediglich die Lacton-Gruppe α -ständig.

¹⁾ Strophanthidin ist nach Jacobs u. Mitarb.⁴⁾⁵⁾ voraussichtlich sterisch gleich gebaut wie Periplogenin, was von Plattner u. Mitarb.⁶⁾ weiter sehr wahrscheinlich gemacht wurde. Analoge Sulfide sind früher aus anderen Umwandlungsprodukten des Strophanthidins von Jacobs u. Elderfield⁷⁾⁸⁾ erhalten worden.

²⁾ Kuno Meyer, Helv. **30**, 1976 (1947).

³⁾ Schon vorher hatten L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, H. Heusser, Kd. Meier den 3 β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocolansäuremethylester teilsynthetisch bereitet, der sich mit dem entsprechenden durch Abbau von Digitoxigenin erhaltenen Produkt als identisch erwies und für den sie auf Grund theoretischer Überlegungen von Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, Kd. Meier, Helv. **29**, 2023 (1946), die 14-*iso*-Konfiguration ableiten.

⁴⁾ W. A. Jacobs, R. C. Elderfield, T. B. Grave, E. W. Wignall, J. Biol. Chem. **91**, 617 (1931).

⁵⁾ W. A. Jacobs, R. C. Elderfield, J. Biol. Chem. **91**, 625 (1931).

⁶⁾ Pl. A. Plattner, A. Segre, O. Ernst, Helv. **30**, 1432 (1947).

⁷⁾ W. A. Jacobs, R. C. Elderfield, J. Biol. Chem. **97**, 727 (1932).

⁸⁾ W. A. Jacobs, R. C. Elderfield, J. Biol. Chem. **113**, 611 (1936).

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur Analyse wurden, wenn nichts anderes vermerkt, 3 Stunden im Hochvakuum bei der angegebenen Temperatur getrocknet, zur spez. Drehung 1 Std. bei $70-80^\circ$. „Schweinchen“ bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde. „Übliche Aufarbeitung“ bedeutet: Eindampfen im Vakuum bei 30° , Aufnehmen in Äther (od. Chloroform), Waschen mit verd. H_2SO_4 , Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen.

Isolierung von Periplogenin, Emicymarin und Nebenprodukten aus *Strophanthus-Eminii*-Samen.

1 kg Samen wurde gemahlen und durch Perkolation mit Petroläther bei 20° erschöpfend entfettet. Das an der Luft getrocknete Samenpulver (690 g) wurde hierauf mit 4 L Wasser bei 0° 1 Std. geschüttelt, über Kieselgur scharf abgenutscht, nochmals mit 2,5 L Wasser von 0° angeteigt, 12 Std. bei 0° stehen gelassen und wie oben abgenutscht. Die vereinigten klaren Wasserauszüge wurden mit etwas Toluol versetzt bei 0° auf die Seite gestellt.

Die Filtrückstände wurden mit 1 L 96-proz. Alkohol von 0° verrührt, 2 Std. bei 0° stehen gelassen, dann mit 1 L Wasser von 0° versetzt, 1 Std. geschüttelt und über Kieselgur abgenutscht. Diese Extraktion wurde noch zweimal wiederholt, worauf die Samentrückstände nicht mehr bitter waren und verworfen wurden. Die klaren Alkohol-Wasserauszüge wurden im Vakuum bei 40° auf 500 cm^3 eingeeengt, das trübe Konzentrat mit den obigen Wasserauszügen vereinigt und diese Mischung unter Kontrolle des pH , das 5–6 betragen soll, zur Vervollständigung der enzymatischen Spaltung 3 Tage bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde das aus 700 g $\text{Pb}(\text{OAc})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ mit der ber. Menge verd. NaOH frisch gefällte und mit dest. Wasser gewaschene $\text{Pb}(\text{OH})_2$ eingetragen, die Mischung 1 Std. energisch geschüttelt, durch ein mit PbCO_3 gedichtetes Filter genutscht und gut mit 50-proz. Alkohol nachgewaschen. Das ganz schwach alkalische Filtrat ($\text{pH} = \text{ca. } 8$) wurde mit verd. H_2SO_4 leicht angesäuert ($\text{pH} = \text{ca. } 6$), im Vakuum bei $40-45^\circ$ Badtemp. auf 650 cm^3 eingeeengt, filtriert und zur Entfernung leicht ätherlöslicher Verunreinigungen einmal mit 300 cm^3 Äther ausgeschüttelt. Dieser Auszug hinterliess beim Eindampfen 1,17 g Rückstand¹).

Die wässrige Lösung wurde hierauf 4mal mit je 300 cm^3 Chloroform-Alkohol (2 : 1), einmal mit 300 cm^3 Chloroform-Alkohol (1 : 1) und schliesslich mit 300 cm^3 Chloroform ausgeschüttelt, worauf sie nicht mehr bitter war und verworfen wurde. Die Auszüge passierten der Reihe nach noch einen Scheidetrichter mit 50 cm^3 Wasser, wurden dann über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 21,5 g rohes Glykosidgemisch als gelbbraunes, amorphes Pulver, entspr. einer Ausbeute von 3,12% auf entfettete Samen berechnet.

Zur Hydrolyse der Cymarosid-Derivate wurde das rohe Gemisch in 2 Portionen mit je 250 cm^3 Methanol und je 250 cm^3 0,1-n. H_2SO_4 20 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten wurde das Methanol im Vakuum bei 25° entfernt und die Lösung 4mal mit je 300 cm^3 Chloroform-Alkohol (1 : 1) und mit 300 cm^3 Chloroform ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten einen Scheidetrichter mit 20 cm^3 n. Sodalsg. und noch zwei weitere mit je 30 cm^3 Wasser. Nach Trocknung über Na_2SO_4 wurden sie im Vakuum bei $40-45^\circ$ eingedampft, worauf ein gelbes schaumiges Pulver zurückblieb, das 17,6 g wog ($= 82\%$ der Menge des Rohglykosids).

Zur Entfernung der aldehydhaltigen Bestandteile wurde dieses Rohprodukt wie folgt in 2 Portionen mit *Girard's* Reagens T^2) behandelt: 8,8 g wurden in 160 cm^3 Methanol

¹) Es ist darin bereits etwas Periplocymarin und Cymarin enthalten.

²) A. Girard, G. Sandulesco, Helv. **19**, 1095 (1936).

und 88 cm³ Eisessig gelöst und nach Zusatz von 8,8 g *Girard's* Reagens 15 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen auf -15° wurden 660 cm³ eisgekühlte 2-n. Natronlauge (= 95% der zur Neutralisation des Eisessigs notwendigen Menge) zugegeben und sofort dreimal mit je 500 cm³ Chloroform-Alkohol (2:1) von -15° ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden einmal mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Es hinterblieben im ersten Ansatz 7,15 g, im zweiten 7,4 g, insgesamt 14,55 g = 82% aldehydfreie Anteile, aus denen sich keine scharf schmelzenden Krystalle isolieren liessen. Aus diesem Grunde wurde das Gemisch in zwei Hälften geteilt und jede für sich über 210 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 700 cm³ Lösungsmittel. Die mit Benzol und Benzol-Chloroform (1:1) eluierten Fraktionen (150 mg) stellten ein gelbes Öl dar. Zwei mit Benzol-Chloroform (1:2) eluierte Fraktionen (950 mg) lieferten nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Äther 632 mg Nadeln vom Smp. 202–206°, die sich nach Mischprobe als Mono-anhydroperiplogenin^{d)} erwiesen. Eine Probe wurde acetyliert und lieferte nach Chromatographie und Umkrystallisieren aus Aceton-Äther Nadeln vom Smp. 222–225°.

3,794 mg Subst. (Trockn. 100°) gaben 10,05 mg CO₂ und 2,81 mg H₂O

C₂₃H₃₄O₅ (414,52) Ber. C 72,43 H 8,27%

Gef. „ 72,50 „ 8,25%

Die Substanz färbte sich mit konz. H₂SO₄ zunächst rotorange. Die Färbung ging über Rotbraun und Gelbbraun in Grün über. Mit Tetranitromethan wurde eine Gelbfärbung erhalten.

Eine mit Benzol-Chloroform (1:9) eluierte Fraktion wog 1,57 g, aus Methanol-Äther krystallisierten 872 mg Nadeln, Smp. 256–270°. Bei der Reaktion mit konz. H₂SO₄ wurden die folgenden Färbungen erhalten: orange - blassgelb - gelbbraun - grün. Eine Probe wurde acetyliert und lieferte aus Aceton-Äther Krystalle vom Smp. 190–196°. Von einer weiteren Untersuchung wurde vorläufig abgesehen.

Zwei mit Chloroform eluierte Fraktionen (655 mg) lieferten nach fünfmaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Äther Krystalle vom Smp. 138–140°, die sich nach Mischprobe mit authentischem Periplogenin (II)^{c)}^{b)} als identisch erwiesen. Auch die Färbungen mit konz. H₂SO₄ waren identisch. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{17} = +29,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1,023 in Methanol).

10,291 mg Subst. zu 1,0052 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{17} = +0,30^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$.

Jacobs und *Hoffmann*^{a)} geben eine spez. Drehung $[\alpha]_D^{27} = +31,5^{\circ}$ (in Alkohol) an, *Stoll* und *Renz*^{b)} eine solche von $[\alpha]_D^{20} = +29,8^{\circ}$ (in Methanol). *Katz* und *Reichstein*^{e)} fanden $[\alpha]_D^{13} = +28,9^{\circ}$ (in Methanol).

Eine mit Chloroform + 1% Methanol eluierte Fraktion (60 mg) krystallisierte nicht. Vier weitere mit demselben Lösungsmittelgemisch eluierte Fraktionen (2,78 g) gaben nach viermaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Äther Prismen vom Smp. 156–159°, die sich nach Mischprobe und H₂SO₄-Reaktion als Emicymarin erwiesen. Eine Probe wurde wie üblich acetyliert und lieferte aus Aceton-Äther sechseckige Blättchen vom Smp. 273–276°. *Lamb* und *Smith*¹⁾ geben für Emicymarin-acetat einen Smp. von 278° an. Ein Präparat von *Katz* und *Reichstein*^{d)} schmolz bei 272–274°.

Mit Chloroform-Methanol (1:1) und reinem Methanol wurden noch 325 mg amorphe Anteile von der Säule abgelöst. Die Chromatographie der zweiten Hälfte lieferte ungefähr die gleichen Fraktionen in ähnlichen Mengenverhältnissen.

Periplogenin-acetat (III).

a) Aus rohem Periplogenin. 1,15 g Periplogenin aus der obigen Chromatographie (Krystalle und Mutterlaugen) wurden in 11,5 cm³ Pyridin und 11,5 cm³ Acetanhydrid gelöst, 12 Std. bei 20° stehen gelassen und dann noch 1 Std. auf 60° erwärmt.

1) *J. D. Lamb, S. Smith, Soc. 1936, 442.*

Die übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther (1 : 3) gab 1,27 g rohes Acetat. Aus Aceton-Äther wurden nur unscharf schmelzende Krystalle vom Smp. 195–240° erhalten. Daher wurden sie wieder mit den Mutterlaugen vereinigt und über 36 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 130 cm^3 Lösungsmittel. Acht mit Benzol-Äther-Gemischen mit einem Äthergehalt von 30–55% eluierte Fraktionen (308 mg) lieferten nach 4maligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 150 mg stumpfe Nadeln vom Smp. 231–239°, die bei der Mischprobe mit Periplogenin-acetat eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung gaben. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +20,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,230$ in Chloroform).

12,372 mg Subst. zu 1,0052 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{17} = +0,25^\circ \pm 0,02^\circ$.

Diese Substanz wurde nicht weiter untersucht.

Zwei mit Benzol-Äther (3 : 7) und (1 : 9), fünf mit reinem Äther und eine mit Äther-Methanol (19 : 1) eluierte Fraktion (679 mg) gaben nach viermaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther und Aceton-Äther 560 mg kleine unregelmässige Quader vom Smp. 230–239°, die bei der Mischprobe mit authentischem Periplogenin-acetat (III) keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +45,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,116$ in Chloroform).

11,217 mg Subst. zu 1,0052 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{17} = +0,51^\circ \pm 0,02^\circ$.

Katz und Reichstein^{d)} geben für Periplogenin-acetat einen Smp. von 230–242° und eine spez. Drehung $[\alpha]_{\text{D}}^{14} = +46,7^\circ$ (in Chloroform) an. Die Färbungen mit konz. H_2SO_4 waren bei beiden Präparaten gleich.

b) Aus Emicymarin. 2,15 g Emicymarin aus der obigen Chromatographie (Krystalle und Mutterlaugen) wurden nach den Angaben von Katz und Reichstein^{e)} in 100 cm^3 Aceton und 1,05 cm^3 konz. HCl gelöst und 14 Tage bei 18° stehen gelassen und wie dort beschrieben aufgearbeitet. Es resultierten 1,88 g Aglykon-Gemisch, aus dem sich durch Umkrystallisieren aus Methanol-Äther 150 mg Periplogenin (II) vom Smp. 141–145° isolieren liessen. Die Mutterlaugen (1,71 g) wurden mit 30 cm^3 Methanol und 30 cm^3 0,1-n. H_2SO_4 20 Min. unter Rückfluss gekocht, worauf sich noch 1,65 g Chloroform-lösliches, neutrales Material isolieren liess, das zusammen mit den obigen 150 mg Krystallen acetyliert wurde (18 cm^3 Pyridin, 18 cm^3 Acetanhydrid, 12 Std. bei 18°, dann 1 Std. bei 60°). Das rohe Acetat (1,78 g) wurde über 54 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 180 cm^3 Lösungsmittel. Vier mit Benzol-Äther (1 : 1) eluierte Fraktionen (330 mg) gaben nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther und Aceton-Äther stumpfe Nadeln vom Smp. 220–224°, die bei der Mischprobe mit den bei der ersten Chromatographie erhaltenen Mono-anhydro-periplogenin-acetat vom Smp. 222–225° keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

3,872 mg Subst. (Trockn. 100°) gaben 10,23 mg CO_2 und 2,87 mg H_2O

$\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (414,52)	Ber. C 72,43	H 8,27%
	Gef. „ 72,29	„ 8,29%

Mit Tetranitromethan gab diese Substanz eine starke Gelbfärbung. Sechs mit reinem Äther eluierte Fraktionen (665 mg) lieferten nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 580 mg zu Drusen vereinigte Blättchen vom Smp. 230–235°, die sich nach Mischprobe und H_2SO_4 -Reaktion mit authentischem Periplogenin-acetat (III)^{d)} als identisch erwiesen. Die spez. Drehung $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +42,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,064$ in Chloroform).

10,700 mg Subst. zu 1,0052 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{17} = +0,45^\circ \pm 0,02^\circ$.

allo-Periplogenin-acetat (VI).

8,69 g eines rohen Gemisches von Emicymarin und *allo*-Emicymarin¹⁾ vom Smp. 158–165° wurden nach den Angaben von Katz und Reichstein^{e)} in 430 cm^3 Aceton und

¹⁾ Dieses Material war früher von Herrn Dr. W. Blome aus Strophanthus-kombé-Samen gewonnen worden.

4,3 cm³ konz. HCl gelöst und 14 Tage bei 20° stehen gelassen. Nach Zugabe von 200 cm³ Wasser wurde im Vakuum eingengt und dreimal mit je 250 cm³ Chloroform und dreimal mit je 250 cm³ Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und getrockneten Chloroform-Auszüge gaben 2,16 g Rohprodukt, das mit je 22 cm³ Pyridin und Acetanhydrid acetyliert wurde. Das rohe Acetat (2,17 g) lieferte nach Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 1,5 g *allo*-Periplogenin-acetat (VI) vom Smp. 189–198°. Die Chloroform-Alkohol-Auszüge gaben auf dieselbe Weise 4,96 g Rohprodukt, das mit je 50 cm³ Pyridin und Acetanhydrid acetyliert wurde. Das rohe Acetat (4,69 g) wurde über 140 g Al₂O₃ chromatographiert, wobei zum Nachwaschen je 400 cm³ Lösungsmittel dienten. Das gesuchte *allo*-Periplogenin-acetat fand sich in den mit Benzol-Äther (3:2) bis zu reinem Äther, ferner in den mit Benzol-Chloroform bis zu einem Chloroform-Gehalt von 50% eluierten Fraktionen. Die Rückstände von 12 Fraktionen wogen insgesamt 3,48 g und gaben nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 2,73 g Prismen vom Smp. 194–196°, die bei der Mischprobe mit authentischem *allo*-Periplogenin-acetat (VI) keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = +53,1^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,224$ in Chloroform).

12,312 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,65^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$.

Katz und Reichstein geben für *allo*-Periplogenin-acetat (VI) einen Smp. von 194–197° und eine spez. Drehung $[\alpha]_D^{11} = +52,5^{\circ}$ (in Chloroform)⁽¹⁾ an. Später fanden sie einen Smp. von 189–192° und $[\alpha]_D^{13} = +57,5^{\circ}$ (in Chloroform)^(e).

3 β -Acetoxy-21-glyoxyloxy-5,14-dioxy-14-*iso*-pregnan-on-(20) (VII).

250 mg Periplogenin-acetat (III) vom Smp. 230–239° wurden in 25 cm³ neutralem Essigester gelöst und in die auf –80° gekühlte Lösung während 4 Min. trockener ozonhaltiger Sauerstoff (ca. 100 cm³/Min. mit ca. 4,5% O₃) eingeleitet¹⁾. Die violette Lösung wurde 20 Min. bei –80° stehen gelassen, wobei keine vollständige Entfärbung eintrat. Dann wurde bei 0° im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 3 cm³ reinem Eisessig gelöst und nach Zusatz von kleinen Portionen Zinkstaub 35 Min. bei Zimmertemp. geschüttelt, worauf feuchtes Kaliumjodidstärkepapier nicht mehr gebläut wurde. Nach Abdampfen des Eisessigs im Vakuum wurde in Chloroform aufgenommen, filtriert und die Lösung mit Wasser und n. Sodalösung neutral gewaschen, getrocknet und im Vakuum abgedampft. Der weisse, schaumige Rückstand (224 mg) gab nach viermaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 95 mg Körnchen vom Smp. 178–184°, $[\alpha]_D^{22} = +69,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,295$ in Chloroform).

13,077 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +0,90^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,762 mg Subst. (Trockn. 100°, Schweinchen) gaben 8,85 mg CO₂ und 2,80 mg H₂O

C₂₅H₃₆O₈ (464,54) Ber. C 64,64 H 7,81%

C₂₅H₃₈O₈ (466,55) Ber. „ 64,35 „ 8,21%

Gef. „ 64,20 „ 8,33%

Die Krystalle, sowie ihre Mutterlaugen reduzierten in wenig Methanol gelöst alkalische Silberdiamminlösung bei 18° rasch und stark.

3 β -Acetoxy-5,14,21-trioxy-14-*iso*-pregnan-on-(20) (VIII).

215 mg Glyoxylester (VII) (Krystalle und Mutterlaugen) wurden in 8,5 cm³ Methanol gelöst, mit der kalt bereiteten Lösung von 245 mg KHCO₃ in 4 cm³ Wasser versetzt und 19 Std. bei 18° stehen gelassen. Nach Entfernung des Methanols im Vakuum wurde dreimal mit je 30 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und getrockneten Lösungen hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 179,5 mg weissen

¹⁾ Zur Methodik vergl. K. Meyer, T. Reichstein, Helv. **30**, 1508 (1947).

schaumigen Rückstand. Umkrystallisieren aus Äther, dann aus Chloroform-Äther und Aceton-Äther gab 58 mg grobe Nadeln vom Smp. 162–166°; $[\alpha]_D^{20} = +70,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,262$ in Chloroform).

12,659 mg Subst. zu 1,0029 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,89^\circ \pm 0,02^\circ$

3,879 mg Subst. (Trockn. 100°, Schweinchen) gaben 9,62 mg CO₂ und 3,06 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₆ O ₆ (408,52)	Ber. C 67,62	H 8,88%
	Gef. „ 67,68	„ 8,83%

3 β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-*iso*-ätio-cholansäure-methylester (XI).

170 mg Ketol (VIII) (Krystalle und Mutterlaugen) wurden in 3 cm³ reinem Dioxan gelöst, mit der Lösung von 240 mg Perjodsäure in 0,6 cm³ Wasser versetzt, worauf nach ca. 3 Min. Abscheidung von HJO₃ einsetzte. Die Mischung blieb 3 Std. bei 20° stehen. Nach Abdampfen des Dioxans im Vakuum wurde der Rückstand mit 10 cm³ Wasser aufgenommen und dreimal mit je 30 cm³ Chloroform-Äther (1 : 4) ausgeschüttelt. Die vereinigten Lösungen wurden 5mal mit je 1 cm³ n. Sodalösung unter Zusatz von Eis ausgezogen, dann mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Es wurden 6 mg Neutralprodukt erhalten. Die alkalischen Lösungen wurden bei 0° mit konz. HCl bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt, dreimal mit je 50 cm³ Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformlösungen mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Die so erhaltenen sauren Anteile (166 mg) krystallisierten nicht. Sie wurden in 1 cm³ Methanol und 9 cm³ Äther gelöst, mit ätherischer Diazomethanlösung im Überschuss versetzt und 10 Min. bei 0° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 170 mg rohes Neutralprodukt und nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 162 mg rhombische Plättchen vom Smp. 158–163°; $[\alpha]_D^{17} = +57,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,105$ in Chloroform).

11,115 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,64^\circ \pm 0,02^\circ$.

3,892 mg Subst. (Trockn. 80°) gaben 9,63 mg CO₂ und 3,05 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₆ O ₆ (408,52)	Ber. C 67,62	H 8,88%
	Gef. „ 67,52	„ 8,77%

3 β -Acetoxy-ätio-allocholansäure-methylester (XIX) und Ätio-allocholansäure-methylester (XX) aus (XI).

100 mg Ester (XI) vom Smp. 158–163° wurden in 1,3 cm³ Pyridin gelöst, mit 0,3 cm³ POCl₃ versetzt und unter Zusatz einer Spur Wasser 14 Std. bei 37–40° stehen gelassen. Dann wurde etwas Eis zugegeben. Übliche Aufarbeitung mit 30 cm³ Äther gab 75 mg hellbraunes Öl, das im Hochvakuum bei 150–160° Badtemp. destilliert wurde. Das hellgelbe Destillat (62 mg) gab aus Methanol 19 mg Nadeln vom Smp. 138–146° (Gemisch der Ester (XV) und (XVI)). Hauptmenge Krystalle und Mutterlaugen (49 mg) wurden in 2 cm³ Eisessig gelöst und mit 27 mg PtO₂·H₂O hydriert. Die Wasserstoffaufnahme war nach 1 Std. beendet und betrug 13,5 cm³ (für den Katalysator ber. 4,9 cm³, für 2 Doppelbindungen (XV) 5,92 cm³, für 3 Doppelbindungen (XVI) 10,58 cm³). Nach Zusatz von 25 cm³ Äther wurde das Platin abfiltriert und das Filtrat fünfmal mit je 1 cm³ n. Sodalösung unter Zugabe von Eis, dann zweimal mit je 1 cm³ Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt (44 mg) gab aus Methanol Krystalle vom Smp. 110–145°. Krystalle und Mutterlauge wurden wieder vereinigt und über 1,3 g Al₂O₃ chromatographiert. Da auf diese Weise keine Trennung erzielt werden konnte, wurde das gesamte Material (40 mg) nochmals über 3,6 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol-Gemischen mit einem Benzolgehalt von 4–8% eluierten Fraktionen gaben nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methanol 17 mg flache Nadeln vom Smp. 131–141°. Diese wurden im Hochvakuum bei 115° Badtemp. sublimiert und lieferten nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol 11 mg flache Nadeln vom

Smp. 140–142°, die sich nach Mischprobe als Ätio-allocholansäure-methylester (XX) erwiesen. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{16} = +50,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,079$ in Chloroform).

10,896 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,54^\circ \pm 0,02^\circ$.

3,654 mg Subst. (Trockn. 60°) gaben 10,59 mg CO₂ und 3,52 mg H₂O

C₂₁H₃₄O₂ (318,47) Ber. C 79,19 H 10,76%

Gef. „ 79,09 „ 10,79%

Tschesche^{h)} gibt für Ätio-allocholansäure-methylester (XX) einen Smp. von 140–142° und $[\alpha]_D^{18} = +48^\circ$ (in Chloroform) an. *Plattner* und *Fürst*¹⁾ fanden $[\alpha]_D = +55,4^\circ$ (in Chloroform), *von Euw* und *Reichstein*²⁾ $[\alpha]_D^{13} = +48,7^\circ$ (in Dioxan).

Die mit Chloroform eluierten Fraktionen gaben aus Methanol 15 mg rhombische Blättchen vom Smp. 134–141°, die ebenfalls im Hochvakuum bei 130° sublimiert wurden. Nach zweimaligem Umkrystallisieren des Sublimats aus Pentan wurden 5 mg Blättchen vom Smp. 146–149° erhalten, die bei der Mischprobe mit authentischem 3 β -Acetoxy-ätio-allocholansäure-methylester (XIX) keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{16} = +38,8^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,399$ in Chloroform).

4,024 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,155^\circ \pm 0,02^\circ$

1,923 mg Subst. gaben 5,15 mg CO₂ und 1,63 mg H₂O

C₂₆H₃₆O₄ (376,52) Ber. C 73,36 H 9,64%

Gef. „ 73,08 „ 9,49%

Steiger und *Reichstein*¹⁾ geben für 3 β -Acetoxy-ätio-allocholansäure-methylester (XIX) einen Smp. von 142–144° an, *Ruzicka* und Mitarb.²⁾ einen Smp. von 149° und eine spez. Drehung $[\alpha]_D = +36^\circ$ (in Chloroform). Zum Vergleich wurde noch eine Drehung mit dem von *Steiger* und *Reichstein*¹⁾ hergestellten Präparat ausgeführt. Sie betrug $[\alpha]_D^{16} = +37,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,082$ in Chloroform).

10,972 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,405^\circ \pm 0,02^\circ$.

3 β -Acetoxy-21-glyoxyloxy-5,14-dioxy-14-*iso*-17-*iso*-pregnan-on-(20) (IX).

700 mg *allo*-Periplogenin-acetat (VI) vom Smp. 196–198° wurden in 30 cm³ neutralem Essigester gelöst und wie bei (VIII) beschrieben 15 Min. bei –80° ozonisiert. Die Reduktion erfolgte in 3 cm³ Eisessig mit ca. 1 g Zinkstaub und war nach 45 Min. beendet. Es wurden 685 mg Neutralprodukt erhalten. Dreimaliges Umkrystallisieren aus Aceton-Äther lieferte 277 mg Körnchen vom Smp. 178–180°, die alkalische Silberdiamminlösung stark reduzierten. $[\alpha]_D^{16} = -8,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,227$ in Chloroform).

12,384 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = -0,10^\circ \pm 0,02^\circ$

3,757 mg Subst. (Trockn. 100°, Schweinchen) gaben 8,74 mg CO₂ und 2,79 mg H₂O

C₂₅H₃₆O₈ (464,54) Ber. C 64,64 H 7,81%

C₂₅H₃₆O₈ · ½ H₂O (473,55) Ber. „ 63,36 „ 7,88%

Gef. „ 63,48 „ 8,31%

3 β -Acetoxy-5,14,21-trioxy-14-*iso*-17-*iso*-pregnan-on-(20) (XII).

632 mg Glyoxylsäure-ester (IX) (Krystalle und Mutterlaugen) wurden in 10 cm³ Methanol mit 720 mg KHCO₃ in 8 cm³ Wasser wie bei (VIII) beschrieben verseift. Die analog durchgeführte Aufarbeitung gab 608 mg rohes Ketol. Nach viermaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther wurden Prismen vom Smp. 176–179° erhalten, die

¹⁾ *Pl. A. Plattner, A. Fürst, Helv. 26, 2266 (1943).*

²⁾ *J. von Euw, T. Reichstein, Helv. 27, 1851 (1944).*

alkalische Silberdiamminlösung stark reduziert. $[\alpha]_D^{17} = -8,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,176$ in Chloroform).

11,875 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = -0,10^\circ \pm 0,02^\circ$

3,500 mg Subst. (Trockn. 100° , Schweinchen) gaben $8,66 \text{ mg CO}_2$ und $2,81 \text{ mg H}_2\text{O}$

$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_6$ (408,25)	Ber. C 67,62	H 8,88%
	Gef. „ 67,52	„ 8,98%

3 β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-cholansäure (XIII).

595 mg Ketol (XII) (Krystalle und Mutterlaugen) wurden in 10 cm^3 reinem Dioxan gelöst, mit der Lösung von 830 mg Perjodsäure in $2,5 \text{ cm}^3$ Wasser versetzt und 2 Std. bei 20° stehen gelassen. Die wie bei (XI) durchgeführte Aufarbeitung gab 22 mg Neutralprodukt, das nicht krystallisierte. Die sauren Anteile (531 mg) lieferten nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Äther 475 mg Blättchen vom Smp. $142-145^\circ$. Die Schmelze erstarrte zwischen 150° und 180° und schmolz definitiv bei $207-209^\circ$.

3,709 mg Subst. (Trockn. 100° , Schweinchen) gaben $9,00 \text{ CO}_2$ und $2,84 \text{ mg H}_2\text{O}$

$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_6$ (394,48)	Ber. C 66,98	H 8,69%
	Gef. „ 66,36	„ 8,57%

3 β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-cholansäure-methylester (XIV).

500 mg Säure (XIII) (Krystalle und Mutterlaugen) wurden in $2,5 \text{ cm}^3$ Methanol und $22,5 \text{ cm}^3$ Äther gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach 10 Min. wurde wie üblich aufgearbeitet. Der rohe Methylester wog 466 mg und lieferte nach viermaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Äther 372 mg Plättchen vom Smp. $186-187^\circ$ und $[\alpha]_D^{17} = +9,8^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,231$ in Chloroform).

22,520 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = +0,22^\circ \pm 0,02^\circ$

3,649 mg Subst. (Trockn. 90°) gaben $9,03 \text{ mg CO}_2$ und $2,91 \text{ mg H}_2\text{O}$

$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_6$ (408,52)	Ber. C 67,62	H 8,88%
	Gef. „ 67,53	„ 8,93%

3 β -Acetoxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-allocholsäure-methylester (XXI), 14-*iso*-17-*iso*-Ätio-allocholsäure-methylester (XXII) und 3 β -Acetoxy-5-oxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-cholansäure-methylester (XXV) aus (XIV).

200 mg Methylester (XIV) vom Smp. $186-187^\circ$ wurden in $5,5 \text{ cm}^3$ Pyridin gelöst, mit $1,2 \text{ cm}^3$ POCl_3 und einer Spur Wasser versetzt und zunächst $\frac{1}{2}$ Std. auf 60° , dann noch 14 Std. auf 37° erwärmt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei der Wasserabspaltung von (XI) beschrieben, nur wurde statt Äther eine Mischung von Chloroform-Äther (1 : 10) verwendet. Das braune Rohprodukt (155 mg) wurde im Molekularkolben im Hochvakuum bei $165-170^\circ$ Badtemp. destilliert und das gelbe Destillat (142 mg) (Gemisch von (XVII), (XVIII) und (XXIII)) in $3,5 \text{ cm}^3$ Eisessig mit $73,5 \text{ mg PtO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ hydriert. Die Wasserstoffaufnahme war nach $1\frac{1}{2}$ Std. beendet und betrug $27,1 \text{ cm}^3$ (berechnet für den Katalysator $13,45 \text{ cm}^3$, für 1 Doppelbindung (XXIII) $8,18 \text{ cm}^3$, für 2 Doppelbindungen (XVII) $17,20 \text{ cm}^3$, für 3 Doppelbindungen (XVIII) $30,68 \text{ cm}^3$). Nach Zusatz von 50 cm^3 Chloroform-Äther (1 : 10) wurde das Platin abfiltriert und das Filtrat wie üblich neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (150 mg) lieferte aus Methanol nur wenig Krystalle vom Smp. $90-115^\circ$. Diese wurden daher mit den Mutterlaugen vereinigt und über $7,5 \text{ g Al}_2\text{O}_3$ chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 25 cm^3 der in der folgenden Tabelle genannten Lösungsmittel.

Frakt. Nr.	Lösungsmittel	Gewicht in mg	Smp.
1—2	Petroläther	Spuren	—
3—4	Petroläther	23	120—123°
5—8	Petroläther bis Petroläther-Benzol (4:1)	4	—
9	Petroläther-Benzol (3:2)	18	115—128°
10—19	Petroläther-Benzol (1:1) bis Ben- zol	73	ca. 75°/152—157°
20—21	Benzol-Äther (3:1) bis (1:3) . . .	5	—
22—25	Äther bis Äther-Chloroform (1:1).	4	142—145°/181—183°
26—29	Chloroform, Methanol.	5	—

Die Fraktionen 3—4 wurden im Hochvakuum bei 105—110° sublimiert und das Sublimat einmal aus Aceton und einmal aus Methanol umkrystallisiert. Es wurden 15 mg Blättchen vom Smp. 129—130° erhalten, die bei der Mischprobe mit authentischem 14-*iso*-17-*iso*-Ätio-allocholansäure-methylester (XXII)^k keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = +25,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,347$ in Chloroform) bzw. $[\alpha]_D^{19} = +24,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,344$ in Dioxan).

13,540 mg Subst. zu 1,0052 cm³ (Chloroform); $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,34^\circ \pm 0,02^\circ$

13,517 mg Subst. zu 1,0052 cm³ (Dioxan); $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,33^\circ \pm 0,02^\circ$.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum 2 Std. bei 80° getrocknet und unmittelbar vor der Verbrennung kurz geschmolzen.

3,769 mg Subst. gaben 10,94 mg CO₂ und 3,64 mg H₂O

C₂₁H₃₄O₂ (318,47) Ber. C 79,19 H 10,76%

Gef. „ 79,21 „ 10,81%

Plattner u. Mitarb.^k) fanden für den Ester (XXII): Smp. 129—130,5°; $[\alpha]_D^{15} = +36,9^\circ$ (in Chloroform) bzw. $[\alpha]_D = 25,9^\circ$ (in Dioxan). Eine von uns ausgeführte Bestimmung mit dem Originalpräparat von Plattner u. Mitarb.^k)¹) ergab folgenden Wert: $[\alpha]_D^{18} = +25,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,546$ in Chloroform).

15,541 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,40^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Fraktion 9 wurde im Hochvakuum bei 130—145° sublimiert und dreimal aus Methanol umkrystallisiert. Es wurden sechseckige Säulen vom Smp. 128—130° erhalten, die sich nach Mischprobe als 3- β -Acetoxy-14-*iso*-17-*iso*-Ätio-allocholansäure-methylester (XXI)¹) erwiesen. Mit dem Ester (XXII) gaben sie eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = +17,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,617$ in Chloroform).

6,205 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $[\alpha]_D^{18} = +0,11^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 2 Std. im Hochvakuum bei 80° getrocknet und unmittelbar vor der Verbrennung kurz geschmolzen.

3,641 mg Subst. gaben 9,80 mg CO₂ und 3,15 mg H₂O

C₂₃H₃₆O₄ (376,52) Ber. C 73,36 H 9,64%

Gef. „ 73,45 „ 9,68%

¹) Wir danken Herrn Prof. Plattner für die Überlassung dieses Materials. Die Ursache für die unterschiedlichen Werte konnte noch nicht abgeklärt werden. An der Identität der beiden Produkte ist aber nicht zu zweifeln.

Plattner u. Mitarb.¹⁾ geben für den Ester (XXI) einen Smp. von 130,5–131° und eine spez. Drehung $[\alpha]_D^{19} = +24,1^\circ$ (in Chloroform) an. Eine eigene Messung mit demselben Präparat¹⁾ ergab $[\alpha]_D^{19} = +20,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,257$ in Chloroform).

12,630 mg Subst. zu 1,0039 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,26^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Fraktionen 10–19 wurden im Hochvakuum bei 150–160° sublimiert und nochmals aus Aceton-Pentan umkrystallisiert. Es wurden flache Nadeln erhalten, die zunächst bei ca. 75° schmolzen, bei etwa 100° wiedererstarren und endgültig bei 155–156° schmolzen. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +58,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,459$ in Chloroform).

14,671 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,86^\circ \pm 0,02^\circ$

3,882 mg Subst. (Trockn. 100°, Schweinchen) gaben 9,99 mg CO₂ und 3,17 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₆ O ₅ (392,52)	Ber. C 70,36	H 9,24%
	Gef. „ 70,23	„ 9,14%

Der Analyse nach handelt es sich um einen Monoacetoxy-oxy-ätio-cholansäure-methylester, und zwar, wie sich aus den folgenden Versuchen ergibt, um den Ester (XXV).

Die Fraktionen 22–25 wurden mehrmals aus Methanol-Äther umkrystallisiert und gaben rhombische Platten vom Smp. 185–187°, die sich nach Mischprobe als unveränderter 3- β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-*iso*-17-ätio-cholansäure-methylester (XIV) erwiesen.

Eine erneute Wasserabspaltung von 200 mg (XIV) und die nachfolgende Hydrierung ergaben dieselben drei Stoffe in den gleichen Mengenverhältnissen.

3 β , 5-Dioxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-cholansäure-methylester (XXIV).

85 mg Ester (XXV) wurden mit 3 cm³ Methanol und der Lösung von 50 mg KOH in 0,2 cm³ Wasser $\frac{3}{4}$ Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Zugabe von 2 cm³ Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, die Lösung angesäuert und dreimal mit je 10 cm³ Chloroform-Äther (1 : 5) ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und getrockneten Auszüge hinterliessen beim Abdampfen 72 mg rohe Säure, die nicht krystallisierte und daher in üblicher Weise mit Diazomethan in ihren Methylester (XXIV) übergeführt wurde. Das neutrale Rohprodukt (74 mg) lieferte aus Äther-Pentan 45 mg Prismen vom Smp. 162–165°. Rückacetylierung von 7 mg dieses Esters gab 4 mg Acetoxy-ester (XXV) vom Smp. 154–157°, Mischprobe ebenso.

3-Keto-14-*iso*-17-*iso*-ätio-cholen-(4)-säure-methylester (XXVI).

20 mg Dioxy-ester (XXIV) vom Smp. 162–165° wurden in 0,25 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,5 cm³ 2 proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und 4 Std. bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung (mit Äther) gab 16 mg neutrales Rohprodukt. Dieses wurde mit 0,5 cm³ Eisessig $2\frac{1}{2}$ Std. unter Rückfluss gekocht (Badtemp. 125°). Nach Abdampfen des Eisessigs im Vakuum wurde der Rückstand im Hochvakuum bei 130–135° sublimiert und das Sublimat (14 mg) über 500 mg Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Petrol-äther-Benzol (1 : 1) und mit Benzol eluierten Fraktionen wogen 11 mg und gaben nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 9 mg Körnchen vom Smp. 166–169°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = +130,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,887$ in Chloroform).

8,924 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +1,155^\circ \pm 0,02^\circ$

2,828 mg Subst. gaben 7,89 mg CO₂ und 2,28 mg H₂O

C ₂₁ H ₃₀ O ₃ (330,44)	Ber. C 76,32	H 9,15%
	Gef. „ 76,14	„ 9,02%

Das Ultraviolett-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

¹⁾ Wir danken Herrn Prof. *Plattner* für die Überlassung dieses Materials. Die Ursache für die unterschiedlichen Werte konnte noch nicht abgeklärt werden. An der Identität der beiden Produkte ist aber nicht zu zweifeln.

Umsetzung von 3 β , 5-Dioxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-cholansäure-methylester (XXIV) mit Phosgen.

65 mg Ester (XXIV) vom Smp. 162–165° wurden in 5 cm³ trockenem alkohol-freien Chloroform gelöst. Von dieser Lösung wurden wieder 1,5 cm³ abdestilliert. Nach Zugabe von 1 cm³ abs. Pyridin wurde auf –15° abgekühlt, 3 cm³ einer 10-proz. Lösung von Phosgen in Toluol zugegeben und das Gemisch 1½ Std. unter CaCl₂-Verschluss bei 18° stehen gelassen, wobei es sich rotbraun färbte. Dann wurde unter Zugabe von etwas Eis in Äther aufgenommen, die Ätherlösung mit verd. HCl, Sodalsg. und Wasser neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der braune Rückstand (188 mg) wurde über 6 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol und Benzol-Äther (1:1) eluierten Fraktionen (55 mg) gaben aus Aceton-Petroläther 55 mg farblose Rhomben vom Smp. 175–181°. Nach Sublimation im Hochvakuum und zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Petroläther schmolzen sie bei 181–182,5°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +38,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,674$ in Chloroform).

16,793 mg Subst. zu 1,0029 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,65^\circ \pm 0,02^\circ$

3,642 mg Subst. (Trockn. 100°) gaben 9,29 mg CO₂ und 2,79 mg H₂O

3,400 mg Subst. (Trockn. 100°) gaben 8,697 mg CO₂ und 2,758 mg H₂O (E.T.H. Zürich)

3,955 mg Subst. (Trockn. 100°) gaben 10,056 mg CO₂ und 2,990 mg H₂O (Org. Anst. Basel)

C ₂₂ H ₃₂ O ₅ (376,46)	Ber. C 70,18	H 8,57%
C ₂₂ H ₃₄ O ₅ (378,47)	Ber. „ 69,81	„ 9,05%
	Gef. „ 69,61	„ 8,57%
	Gef. „ 69,81	„ 9,08% (E.T.H. Zürich)
	Gef. „ 69,63	„ 8,46% (Org. Anst. Basel)

Die Mikroanalysen wurden, wenn nichts anderes vermerkt, im mikroanalytischen Laboratorium von Herrn F. Weiser, Basel, ausgeführt.

Curriculum vitae

Als Sohn des Paul Speiser und der Gaby geb. Pitot wurde ich, Peter Paul Speiser, am 26. April 1921 in Basel geboren. Meine Schulbildung erhielt ich in Basel, zuerst in der Primarschule, dann während acht Jahren im Realgymnasium, wo ich im Frühjahr 1940 die Maturität bestand.

Anschliessend immatrikulierte ich mich an der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel zum Studium der Pharmacie. Nach Abschluss des Fachstudiums und bestandenem Staatsexamen im Frühjahr 1946 begann ich anschliessend unter der Leitung von Herrn Prof. T. Reichstein die vorliegende Dissertation, die ich im Sommer 1947 abschloss.

Im Verlaufe meiner Studien besuchte ich die Vorlesungen und Praktika der Herren Professoren und Dozenten: E. Bernoulli, H. Erlenmeyer, J. A. Häfliger, A. Hagenbach, K. Leupin, T. Reichstein, E. Rothlin, P. Ruggli †, H. Rupe, G. Senn, J. Tomcsik, R. Viollier, W. Vischer.

